N° 55. **V. Schmid** und **P. Tardent.** — Zur Gametogenese von *Podocoryne carnea* M. Sars. (Mit 2 Textabbildungen und 2 Tabellen)

Zool. Institut, Universität Zürich

1. Einleitung

Das Untersuchungsobjekt *Podocoryne carnea* M. Sars gehört zu den kolonialen Hydrozoen der Familie Hydractiniidae. Der Entwicklungszyklus umfasst eine vegetativ sich vermehrende, auf Schneckengehäusen festsitzende Polypengeneration, und eine frei schwimmende geschlechtlich sich fortpflanzende Medusengeneration. Die letztere geht durch Knospung aus der Polypengeneration hervor, wobei diese Blastogenese je nach Art durch verschiedene Umweltfaktoren induziert werden kann (Hauenschild, 1954; Günzl, 1959, 1964; Braverman, 1962a). Die Medusengeneration unterscheidet sich von der Polypengeneration durch eine wesentlich weiter fortgeschrittene strukturelle Organisation und zelluläre Differenzierung. Hand in Hand mit dieser Entwicklung ist eine Einschränkung der morphogenetischen Plastizität zu beobachten. Das Soma der Polypengeneration kann im Gegensatz zu demjenigen der Meduse als unsterblich bezeichnet werden, wie dies Brien (1953) für Vertreter der Gattung *Hydra* postuliert hatte. Frey (1968) hat aber zeigen können, dass diese Aussage nicht unter allen Bedingungen Gültigkeit besitzt, denn Reaggregate von Medusenzellen können wieder in den vegetativen Zustand zurückgeführt werden. Der Autor konnte, von derartigen Aggregaten ausgehend, die Bildung von Stolonen beobachten. Es ist deshalb anzunehmen, dass es in der Meduse Zellen resp. Zellverbände gibt, welche die Fähigkeit zur Metaplasie haben, wobei diese Eigenschaft aber bei unversehrten Tieren aus noch unbekannten Gründen nicht zum Ausdruck kommen kann. Es stellt sich die Frage, ob und allenfalls wo ein stabilisierendes System vorhanden ist, das in der intakten Meduse die morphogenetischen Potenzen der Zellen einschränkt.

In dieser Arbeit wird über einige Befunde berichtet, welche im Zusammenhang mit dieser Frage die Gametogenese und die mit der Medusenentwicklung verbundenen Alterungsprozesse betreffen.

2. Material und Methode

Material: Die für die Untersuchung verwendeten Tiere stammen ursprünglich aus der Bucht von Neapel, wo sie in einer Tiefe von 5-6 Metern gedretscht worden waren. An unserem Institut werden die Kolonien teils auf Objektträgern, teils auf den von Einsiedlerkrebsen befreiten Schneckenschalen der Arten *Nassa mutabilis*

und *Cerithium vulgatum* bei 18°C in Vollglasaquarien weitergezüchtet. Als Zuchtwasser dient künstliches Meerwasser (Frey, 1968). Wichtig für das Wohlbefinden der Kolonien ist eine gute Belüftung der Zuchtgefässe, sowie eine reichliche tägliche Fütterung mit *Artemia salina*, wobei die in den Aquarien vorhandene Mikrofauna für einen raschen Abbau der nicht verwerteten Futtertiere sorgt. Intakte Medusen und Reaggregate derselben wurden in Halbrundschalen mit ca. 20 cm³ Meerwasser bei 18°C gehalten. Das Zuchtwasser wurde alle 2-3 Tage, oder nach jeder Fütterung gewechselt.

Methode: Für jeden Dissoziationsversuch wurden von ein und demselben Klon ca. 300 frei schwimmende frische Medusen isoliert und durch wiederholtes Wasserwechseln gereinigt. In einem ½ cm³ fassenden Röhrchen wurden die Tiere mit Hilfe einer Pipette (Durchmesser 1½ mm) mechanisch dissoziiert. Das so gewonnene Material setzt sich aus Einzelzellen und unterschiedlich grossen Zellverbänden zusammen. Um grössere Zellklumpen von Einzelzellen zu trennen, wurde die Suspension durch ein Nylongewebe filtriert. Die im Filtrat aufgefangenen Einzelzellen wurden anschliessend 3 Minuten bei 4000 rpm zentrifugiert. Das Sediment wurde sodann sorgfältig herauspipettiert, wobei es im hängenden Tropfen in einer Feuchtkammer während 4 Stunden Gelegenheit hatte, weiter zu aggregieren. Die gebildeten Aggregate wurden dann in eine Halbrundschale umgesetzt, die Streptomyzin (0,1 mg/ml Zuchtwasser) enthielt.

Das für die histologische Untersuchung bestimmte Material wurde ohne Narkose in Carnoy fixiert und in Paraplast eingebettet. Die Färbung der 4 μ dicken Schnitte erfolgte mit Hämalaun-Eosin (Romeis, 1948 § 659).

3. Der Alterungsprozess der Meduse

Die Medusen von *Podocoryne carnea* sind fähig, aktiv im freien Wasser zu schwimmen und mit Hilfe ihrer Tentakel Futterorganismen einzufangen. Einige Tage, die Zeit ist Klon-spezifisch, nachdem sich die Medusen vom Gonozoid abgelöst haben, treten in der Medusenstruktur die ersten Degenerationserscheinungen auf, die sich u.a. darin äussern, dass die Meduse ihre Schwimmfähigkeit verliert und auf den Grund des Gefässes sinkt. Dieser Degenerationsprozess beginnt meist mit dem Schrumpfen der Umbrella, wobei es für den weiteren Verlauf des Alterungsprozesses entscheidend ist, ob das Manubrium (Magenstiel) in diesem Stadium ausserhalb oder innerhalb der Velumöffnung liegt (Fig. 2a). Ist das Manubrium von der schrumpfenden Umbrella eingeschlossen, so zerfällt die ganze Meduse nach ein bis zwei Tagen. Ragt der Magenstiel aber über die Umbrella hinaus, wird vom Zerfallsprozess nur diese erfasst, wobei die Tentakel in das Kanalsystem resorbiert werden. Im weiteren Verlauf verschwinden schliesslich die am Manubrium haftenden restlichen Medusengewebe vollständig. Es ist anzunehmen, dass das Zellmaterial der Glocke und deren Strukturen wenigstens

teilweise vom Manubrium resorbiert und weiterverwertet werden. Dafür spricht ein intensiver Materialtransport, der in den noch vorhandenen Radiärkanälen in Richtung Manubrium beobachtet werden kann. Dieses wird vom Zerfallsprozess nicht erfasst. Es ist sogar in der Lage, sich mit den von TARDENT und BALMER (unveröffentlicht) beobachteten Flagellen über Grund fortzubewegen und Nahrung aufzunehmen. Mit Hilfe der an den Lippen des Manubriums vorhandenen Nesselbatterien können Futtertiere festgehalten und ins Manubrium aufgenommen werden. In diesem Zustand verharrt das Manubrium bis zu 2 Wochen, um dann ebenfalls zu zerfallen (Fig. 2b). Während dieser Abbauvorgänge läuft die Gametogenese weiter, wobei in jedem Stadium des Zerfalls Eier resp. Spermien abgegeben werden können. Eine wiederholte Fütterung der Manubrien führt zu einer Intensivierung der Gametogenese, aber irgend eine andere morphogenetische Leistung konnte von den Manubrien degenerierender Medusen nicht erbracht werden.

TABELLE 1.

Durchschnittliche Lebensdauer gefütterter und ungefütterter Medusen. g = Medusen haben einmal gefressen, ng = nicht gefütterte Medusen, a = Dauer der pelagischen Phase, b = Dauer der benthischen Phase.

Klonalter in Tagen (nach Eintreffen aus Neapel)	Periode a in Tagen		Periode b in Tagen		Total n = 16	
	g	ng	g	ng	g	ng
3	6,4	7,6	3,25		9,65	
5	5	5	4,75	1,85	9,75	6,85
8	4	4	2,5	1,9	6,5	5,9
10	4,4	4,4	4,25	2,8	8,65	7,2
14	2,4	3,2	5,2	1,5	7,6	4,7

Um feststellen zu können, welchen Einfluss eine einmalige Fütterung auf die zweite, benthische Lebensphase der Meduse hat, wurden an verschiedenen Tagen aus dem gleichen Klon je 8 gefütterte und 8 nicht gefütterte Medusen isoliert und beobachtet. Dieser Versuch zeigt (Tab. 1), dass die benthische Lebensphase der Meduse durch Fütterung merklich verlängert wird. Dieser Sachverhalt kommt auch im Alterstotal zum Ausdruck. Es scheint zudem, dass sowohl bei den gefütterten als auch bei den nicht gefütterten Medusen mit zunehmendem Klonalter die Zeitdauer der Schwimmform abnimmt, während die Zahlen der im Benthos lebenden Medusenform keinen Einfluss des Klonalters erkennen lassen.

Die Unabhängigkeit des Manubriums und damit der Gametogenese von den übrigen Medusenbereichen wurde in einem Isolationsexperiment geprüft. Zu diesem Zweck wurde das Manubrium von nicht gefütterten Medusen mittels einer feinen Pipette auf einer Hartgummiunterlage ausgestochen. Sowohl das isolierte Manubrium als auch der restliche Medusenteil wurden auf ihr Verhalten hin untersucht, wobei die Kontrolle eine gleiche Anzahl nicht gefütterter unversehrter Medusen umfasste, welche derselben Kolonie wie die verletzten Tiere entstammten. Bereits 24 Stunden nach der Isolation konnte bei allen Medusenteilen eine vollständige Verheilung der Wunde festgestellt werden. In Tabelle 2 sind die aus diesem Versuch erhaltenen Resultate dargestellt. Sie zeigt, dass das Manubrium sich gegenüber den restlichen Medusenstrukturen weitgehend unabhängig verhält, und isoliert selbst die Lebensdauer der Kontroll-Tiere gesichert übertrifft (siehe Diskussion).

Tabelle 2.

Lebenserwartung von ungefütterten isolierten Manubrien und von Medusen ohne Manubrium.

Ansatz	Durchschnittsalter in Tagen, n = 20	Sicherung des Unterschieds mit t-Test
Kontrolle	10,4	t = 5,88 p « 0,001
isolierte Manubrien	12,8	
Medusen ohne Manubrium	5,9	......

4. Die Gametogenese nach Dissoziation und Reaggregation von Medusen

Im Zusammenhang mit der Beobachtung über die weitgehende Autotomie des Manubriums stellt sich die Frage in welchem Umfang die Gametogenese an die Integrität der Meduse resp. des Manubriums gebunden ist. Zu diesem Zweck wurden Medusen in der beschriebenen Weise dissoziiert und reaggregiert. Nach Zentrifugation ist die Reaggregation schon teilweise abgeschlossen, sodass im hängenden Tropfen nur noch wenige Einzelzellen erscheinen. Einige Stunden später haben sich kugelförmige Aggregate gebildet in deren Inneren sich Zellbruchstücke und Einzelzellen finden, welche am Aggregationsprozess nicht teilgenommen haben. In einer zweiten Phase beginnen sich die beiden Schichten, Ekto- und Entoderm, zu scheiden. Dieser Segregationsprozess findet etwa nach 2 Tagen mit der Ausbildung einer polypenähnlichen Mesoglöa seinen Abschluss. Die Geschlechtsprodukte ordnen sich vorzugsweise im ektodermalen Bereich ein. Wie Frey (1968) zeigte, und wie wir bestätigen konnten, sind diese Aggregate fähig, Stolonen zu bilden.

Häufig hingegen finden sich bewegliche tentakelähnliche Auswüchse, die mit fortschreitendem Aggregatsalter wieder resorbiert werden. Bei allen histologisch untersuchten Aggregaten konnte festgestellt werden, dass die Gametogenese bis zum Zerfall des Aggregats weiterläuft (Fig. 2c).

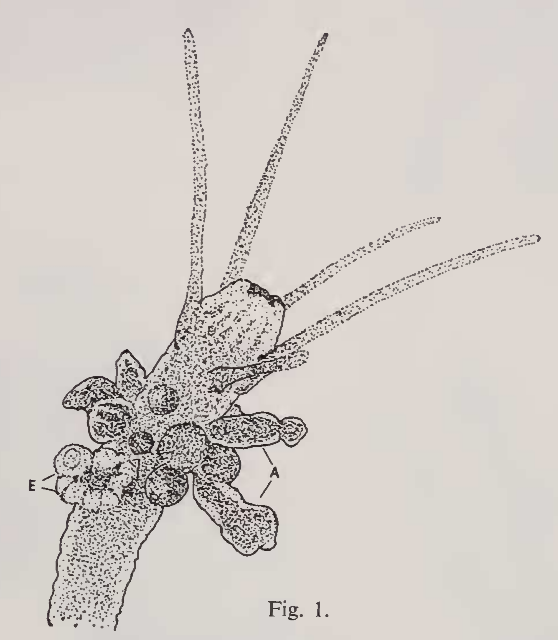


Fig. 1.

Teil eines Gonozoids mit anormalen Medusenknospen (A). (E = reifende Eizellen)

5. Die Gametogenese und Medusenanormogenese

Die im vorhergehenden Kapitel wiedergegebenen Beobachtungen zeigen, dass die Gametogenese bei *Podocoryne carnea* nicht an die Integrität der Medusenstruktur gebunden ist. Dieser Befund konnte an Hand der folgenden Beobachtung bestätigt werden. Bei einem bestimmten weiblichen Klon konnte nach mehrtägigem Aufenthalt desselben in nicht belüftetem Zuchtwasser die Bildung von anormalen Medusenknospen induziert werden (Fig. 1). Im histologischen Bild zeigt sich, dass die Zellen des Glockenkerns entweder normal in die Knospe einwandern, dann aber zusammen mit den Geschlechtszellen zerfallen, oder aber diese wandern nach aussen (Fig. 2d), wobei im Auswuchs reifende Geschlechtszellen festgestellt werden können (Fig. 2e, f). Werden solche anormalen Knospen mit einer Mikroschere sorgfältig vom Blastostyl getrennt, so lässt sich eine fortschreitende Reifung der Eier bis zu deren Entlassung ins Wasser beobachten.

Aus diesen Resultaten wird deutlich, dass zur Reifung der Geschlechtsprodukte in keiner Entwicklungsphase irgend eine Medusenstruktur notwendig ist.

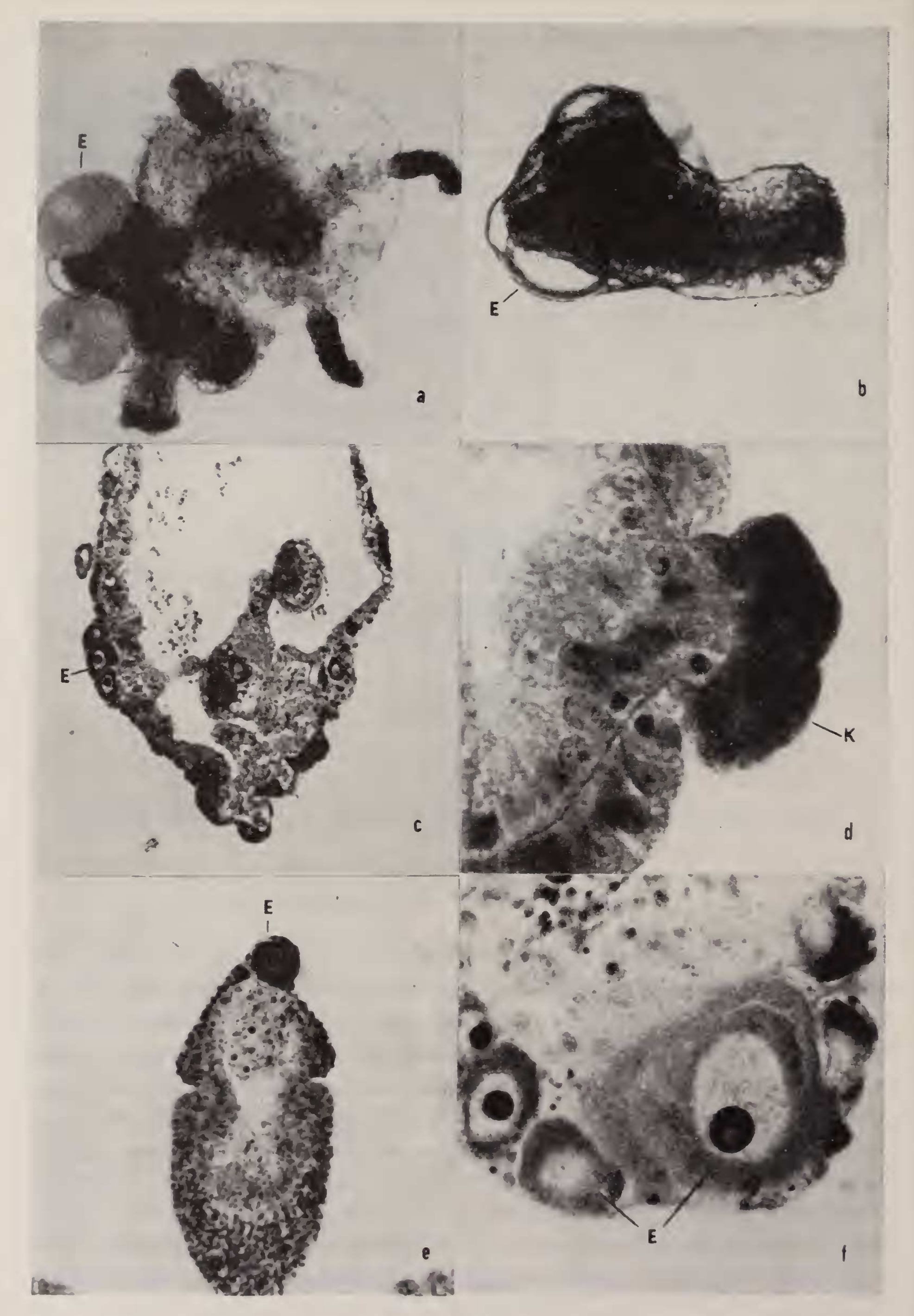


Fig. 2a-f.

a. Meduse im Uebergang zur benthischen Lebensphase. Das Manubrium mit reifen Eizellen ist durch das Velum ausgetreten. Tentakel und Umbrella degenerieren (105x).
b. Manubrium mit reifenden Eizellen (300x).
c. Ausschnitt aus einem Aggregat mit reifenden Eizellen (160x).
d. Längsschnitt durch eine anormale Medusenknospe. Die intensiv gefärbten Zellen des Glockenkerns wandern nach aussen (760x).
e. und f. Längsschnitte durch anormale Medusenknospen mit reifenden Eizellen (260x und 960x). E = reifende Eizellen, K = Zellen des Glockenkerns).

6. Diskussion

Ueber die Lebenserwartung und das Schicksal der Medusen unter natürlichen Bedingungen liegen bis heute keine genauen Angaben vor. Die in Laboruntersuchungen erhaltenen Befunde zu diesem Problem erlauben indessen die Feststellung, dass es für die Medusen die Möglichkeit von 2 verschiedenen Lebensabschnitten gibt. Im ersten ist die Meduse pelagisch und frei schwimmend, während sie im zweiten Abschnitt nach Resorption der Glocke auf Grund absinkt. Das den Abbauprozess der Glocke unversehrt überlebende Manubrium ist fähig, sich mit Hilfe von Flagellen fortzubewegen und Nahrung zu erwerben. Die aufgenommene Nahrung und die durch den Abbauvorgang der übrigen Medusenstrukturen ins Manubrium gelangten Nährstoffe fördern die Gametogenese. Irgend eine andere morphogenetische Leistung des Manubriums konnte nie beobachtet werden. Die Abgabe der Gameten ins Wasser erfolgt im Laboratorium meist in der benthischen Lebensphase, sodass diese, vorausgesetzt dass der Vorgang einem natürlichem Verhalten entspricht, biologisch bedeutsam wird. Eine mögliche Erklärung ergibt sich bei der Annahme, dass sich die Wahrscheinlichkeit einer Befruchtung der Eizellen erhöht, wenn die im Benthos von der Meeresströmung preferenziell an bestimmten Orten abgelagerten Medusen eine grössere Populationsdichte erreichen als im freien Wasser.

Die Integrität der Medusenstruktur ist für den Ablauf der Gametogenese nicht ausschlaggebend, wie dies aus den Resultaten der Dissoziationsversuche hervor geht. Offenbar haben die Keimzellen die Fähigkeit, zu ihrer Reifung verschiedene Zelltypen heranzuziehen, wodurch möglicherweise die morphogenetischen Fähigkeiten und die Möglichkeit der Metaplasie eingeschränkt werden. Unter der Annahme, dass die Gametogenese Teil eines postulierten Medusen-stabilisierenden Systems ist, lässt sich damit auch die selten eintretende Stolonenbildung bei Aggregaten erklären. Im Sinne dieser Hypothese würden die in die Epidermis eingelagerten Gameten jede Neudifferenzierung zurück zur Polypengeneration verhindern, und es kann nur dann zur Stolonenbildung kommen, wenn durch Zufall keine Geschlechtszellen in die Aggregate eingebaut werden.

Wie die Befunde aus den Beobachtungen der anormalen Medusenentwicklung zeigen, ist ein und dieselbe Kolonie befähigt, Gameten sowohl am Gonozoid als auch in der frei beweglichen Medusenform zu bilden. Diese Feststellung ist deshalb von Interesse, weil bei nah verwandten Arten wie *Hydractinia echinata* die Medusengeneration normalerweise auf festsitzende Medusoide beschränkt ist. Es scheint also, dass derartige Reaktionen der Medusengeneration unter gewissen Bedingungen auch bei Arten vorkommen können, deren Entwicklungszyklus normalerweise eine Generation freischwimmender Medusen aufweist.

Die beschriebenen Alterungsprozesse und die anderen erwähnten Befunde unterstreichen das Primat der Gametogenese bei der Meduse von *Podocoryne*

carnea. Dieser Sachverhalt ist in Uebereinstimmung mit den von Brien (1966) bei *Hydra fusca* gemachten Beobachtungen, wo die Gametogenese bis zur Erschöpfung der Reserven an Interstitialzellen und damit des ganzen Tieres ablaufen kann.

Zusammenfassung

1. Im natürlichen Alterungsprozess reifen am Manubrium der Medusen von *Podocoryne carnea* die Gameten auch nach Rückbildung der übrigen Medusenstrukturen heran.

2. Auch in Aggregaten von dissoziiertem und reaggregiertem Medusenmaterial läuft die Gametogenese weiter.

3. Bei einem bestimmten Klon konnte durch verminderte Belüftung des Zuchtbeckens die Bildung von anormalen Medusenknospen induziert werden. Obwohl diese keine funktionellen Medusenstrukturen aufweisen, reifen am distalen Ende der Knospe Eizellen.

LITERATURVERZEICHNIS

Braverman, M. H. 1962a. *Podocoryne carnea, a reliable differentiating system.* Science 135, 310-311.

Brien, P. 1953. *La pérennité somatique.* Biol. Rev. 28, 308-349.

— 1966. *Biologie de la reproduction animale, blastogenèse — gamétogenèse — sexualisation.* Masson et Cie, Paris.

Frey, J. 1968. *Die Entwicklungsleistungen der Medusenknospen und Medusen von Podocoryne carnea M. Sars nach Isolation und Dissoziation.* Roux' Archiv 160, 428-464.

Günzl, H. 1959. *Zur Physiologie der Medusenbildung bei Eirene viridula.* Naturwissenschaften 46, 337.

— 1964. *Untersuchungen über die Auslösung der Medusenknospung bei Hydroidpolypen.* Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. 81, 491-528.

Hauenschild, C. 1954. *Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen über Intersexualität und Gewebeverträglichkeit bei Hydractinia echinata.* Roux' Archiv 147, 1-41.

Romeis, B. 1948. *Mikroskopische Technik*, 15 Aufl. München: Oldenburg.